

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

Untersuchungen über die Genetik
der unterschiedlichen Vergiftbarkeit
menschlicher Serum-Cholinesterase
mit E 600 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)
-phosphat)

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
des Hohen Fachbereichs Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Peter Ulrich Müller
aus Nürnberg

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

Untersuchungen über die Genetik
der unterschiedlichen Vergiftbarkeit
menschlicher Serum-Cholinesterase
mit E 600 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)
-phosphat)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Hohen Fachbereichs Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Peter Ulrich Müller
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



komm. Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 20- Januar 1975

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. <u>Einleitung</u>	
1. Das Wesen der Alkylphosphate	2
2. Deutung der unterschiedlichen Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)- -phosphat)	4
3. Reaktionsunterschiede der Serum-Cholin- esterase mit Acetylcholin und mit Butyrylcholinjodid	7
B. <u>Problemstellung</u>	8
C. <u>Eigene Untersuchungen</u>	10
1. Messung der Serum-Cholinesterase-Aktivität mit Butyrylcholinjodid in der Warburg- -Apparatur	10
a) Versuchsvorbereitung	10
b) Inkubation mit E 600	10
c) Messung der Cholinesteraseaktivität	11
d) Berechnung der Restaktivität	13
2. Versuchsergebnisse	14
D. <u>Zusammenfassung</u>	20
E. <u>Literaturverzeichnis</u>	24

A. Einleitung

1. Wesen der Alkylphosphate

Alkylphosphate finden häufig Verwendung bei Suizidversuchen und haben deshalb in der Toxikologie und der Kriminalistik eine große Bedeutung erlangt. Ihre funktionelle Gruppe ist eine relativ labile Phosphorbindung, bei der sich der Phosphor unter Aufgabe dieser Bindung mit dem esteratischen Zentrum der Acetylcholinesterase verbindet. Da Acetylcholin diesen Hemmstoff vom Enzym nicht verdrängen kann, stellen die Alkylphosphate nicht-kompetitive Hemmstoffe der Acetylcholinesterase dar.

E 605 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-thiophosphat) kann man wohl als einen der bekanntesten Vertreter dieser als Pflanzenschutzmittel verwendeten Phosphorsäureester bezeichnen. Im Organismus findet ein Austausch des zweiwertigen Schwefels der Verbindung durch ein Atom Sauerstoff statt. Erst dadurch wird aus E 605 die eigentlich giftige Substanz E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat).

Die molare Konzentration an Wirkstoff, die in der Lage ist, die Aktivität der Cholinesterase auf die Hälfte herabzusetzen (I_{50}), ist ein Maß für die Toxizität von Alkylphosphaten. Dieser Wert (I_{50}) ist von der Art der Cholinesterase und von den Versuchsbedingungen abhängig. Die Tabelle 1 gibt Auskunft über die I_{50} -Werte von E 600 für Serum-Cholinesterasen verschiedener Herkunft, wie sie in der Literatur beschrieben wurden (Zusammenstellung nach Geldmacher-v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf).

Tabelle 1

I_{50} -Werte für Serum-Cholinesterasen verschiedener Herkunft

Herkunft des Serums	I_{50}	Autor
?	$1,4 \times 10^{-7}$	Schrader (1963)
Pferd	$1,4 \times 10^{-7}$	Heath (1961)
Ratte	$2,63 \times 10^{-8}$	Heath (1961)
?	$1,26 \times 10^{-7}$	Heath (1961)
Mensch	$0,87 \times 10^{-7}$	Rosival u. Mitarb. (1959)
Mensch	$1,6 - 2,6 \times 10^{-8}$	Geldmacher-v. Mallinckrodt (1969)

Geldmacher-v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969), sowie Geldmacher-v. Mallinckrodt und Lindorf (1969) inkubierten Serum-Cholinesterasen von 75 verschiedenen Seren mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration und konnten dabei verschiedene Vergiftungsgrade des Fermentes durch den Hemmstoff feststellen. Unabhängig von der Ausgangsaktivität fanden sie drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Restaktivität:

Gruppe	Anzahl der Personen	Restaktivität in % d. Normalaktivität
I	38	0 - 5,5 niedrig
II	22	13 - 21 mittel
III	15	29 - 51 hoch

2. Deutung der unterschiedlichen Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat

Bei der Deutung des Problems der unterschiedlichen Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen kann man auf zweierlei Theorien stoßen:

1. Es könnte sich um einen Polymorphismus der Serum-Cholinesterasen handeln.
2. Das E 600 könnte durch die im Serum vorkommenden Fermente unterschiedlicher Aktivität gespalten werden und so die unterschiedliche Hemmung der Cholinesterase im Serum erklärt werden.

Ad 1. Bei den menschlichen Serum-Cholinesterasen ist schon mehrfach vor und nach Inkubation mit bestimmten Hemmstoffen eine Zuordnung zu gut definierten Typen (Goedde u. Mitarbeiter, 1967) erfolgt.

Ad 2. Aldrige fand 1953 bei Serumesterasen von Ratte und Pferd zwei Arten von Esterasen, die sich in ihrer Hemmbarkeit durch E 600 unterschieden, So war die Esterase A gegenüber E 600 unempfindlich, während die Esterase B durch E 600 in einer Konzentration von 10^{-7} bis 10^{-8} molar gehemmt wurde.

Wenig später fand Aldrige ein E 600-spaltendes Enzym im Serum von Kaninchen, Ratte und Pferd, das, wie sich herausstellte, mit der A-Esterase identisch war.

Augustinson und Heimbürger (1954) berichteten über ein organische Phosphorverbindungen hydrolysierendes Ferment bei sieben verschiedenen Tierarten und beim Menschen, das sie "Phosphorylphosphatase" nannten.

Friedberg und Erdmann (1959) beobachteten, daß E 600 im Serum von Rindern und Pferden sehr schnell zerstört wird. Als Ursache hierfür nahmen sie ebenfalls eine Spaltung durch eine "Phosphorylphosphatase" an.

1968 konnten Skrinjarik-Spoljar und Reiner, sowie Krisch unabhängig voneinander nachweisen, daß E 600 auch durch menschliches Serum gespalten werden kann, wobei die Konzentration von E 600 weit über der für die völlige Vergiftung der Serumcholinesterase nötigen Mindestmenge lag.

Krisch untersuchte dann Seren von je 25 Frauen und Männern mit einer E 600-spaltenden Aktivität entsprechend 38 bis 190 μMol pro Minute und Liter Serum. Er konnte dabei zwei Gruppen erkennen, die sich durch die Höhe der Esteraseaktivität unterschieden.

Um diese Problem weiter abzuklären, untersuchten Geldmacher-v. Mallinckrodt, Baumgartner, Pétenyi, Burgis, Lindorf und Metzner (1971) bei 50 Probanden mit niedriger, mittlerer und hoher Cholinesterase-Restaktivität nach ihrer Versuchsanordnung (Anti-ChE-Technik mit $3,2 \times 10^{-8}$ molarem E 600) parallel die Aktivität des E 600-spaltenden Prinzips im Serum mit der Methode nach Krisch (1968).

Dabei ergab sich die Identität der Personen mit niederer Aktivität bei beiden Verfahren, die sowohl nach dem eigenen Verfahren als auch nach Krisch etwa 50 % des untersuchten Personenkreises ausmachten. Für alle untersuchten Personen betrug der Korrelationskoeffizient $r = 0,82$.

Sie schlossen daraus, daß die gefundenen Reaktionen nicht mit einem Polymorphismus der Serumcholin-

esterasen erklärt werden können, sondern daß dafür das E 600-spaltende Enzym des menschlichen Serums verantwortlich ist.

Sie nannten diese E 600-spaltende Aktivität, die von anderen Autoren z. B. als A-Esterase oder auch als Phosphorylphosphatase bezeichnet wurde, Para-oxonase.

Durch die gewonnenen Erkenntnisse konnte die früher festgelegte Gruppeneinteilung in neuer Form abgeändert werden.

Dabei entspricht eine hohe Paraoxonase-Aktivität einer hohen Cholinesterase-Restaktivität.

Tabelle 2 zeigt die sich entsprechenden Gruppierungen nach Geldmacher-v. Mallinckrodt, Lindorf, Pétenyi, Flügel, Fischer und Hiller, wobei bereits an eine genetische Ursache der unterschiedlichen Restaktivitäten gedacht wird:

Tabelle 2

Gemessene Cholinesterase Restaktivität	entsprechende Paraoxonase Aktivität	bisherige Bezeichnung	neue Bezeichnung
n i e d r i g	n i e d r i g	G r u p p e I	1 - 1
m i t t e l	m i t t e l	G r u p p e II	2 - 1
h o c h	h o c h	G r u p p e III	2 - 2

Sich entsprechende Bezeichnungen für die Paraoxonase-Aktivität bzw. Cholinesterase-Restaktivität.

3. Reaktionsunterschiede der Serum-Cholinesterase mit Acetylcholin und mit Butyrylcholinjodid

Weil Butyrylcholinjodid durch die Serum-Cholinesterase viel schneller abgebaut wird als Acetylcholin (Wittacker, 1968), sind verschiedene Autoren der Meinung, daß das eigentliche physiologische Substrat der Serum-Cholinesterase das Butyrylcholin sei.

Geldmacher-v. Mallinckrodt und Lindorf (1969), sowie Obiri (1973) verglichen die Reaktion der Serum-Cholinesterase mit Acetylcholin einerseits und mit Butyrylcholinjodid andererseits in der Warburg-Apparatur.

Bei der Vergiftung der Seren mit E 600 konnte auch jedes Serum, das mit Butyrylcholinjodid als Substrat reagierte, in eine der drei Klassen mit niedriger, mittlerer oder hoher Aktivität eingeordnet werden und zwar in die gleiche Klasse wie mit Acetylcholin als Substrat. Die Restaktivität war zahlenmäßig praktisch identisch.

Da bei Verwendung von Butyrylcholinjodid als Substrat die CO_2 -Entwicklung pro Zeiteinheit in der Warburg-Apparatur mehr als doppelt so groß ist wie bei Acetylcholin als Substrat, konnte der Meßvorgang auf die Hälfte der Zeit verkürzt werden.

Da außerdem die Erythrozyten-Cholinesterase wohl mit Acetylcholin, nicht aber mit Butyrylcholinjodid reagiert, scheint die Bestimmung der Restaktivität mit Butyrylcholinjodid genauer zu sein.

B. Problemstellung

Bereits Krisch konnte (siehe S. 5) bei der Untersuchung an Seren von je 25 Männern und Frauen mit E 600 ($10^{-4}M$) zwei verschiedene Gruppen erkennen, die sich durch die Höhe der Cholinesteraseaktivität unterschieden. Wegen der Überlagerung war es ihm aber nicht möglich, eine Einzelperson einer bestimmten Gruppe zuzuordnen. Er dachte bei dieser Gruppenspezifität an eine genetische Ursache.

Geldmacher-v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf konnten durch Untersuchungen an Seren von 50 Versuchspersonen (siehe S. 3) mit E 600 ($3,2 \times 10^{-8}M$) drei verschiedene Gruppen erkennen, und zwar wiesen 28 % eine hohe, 26 % eine mittlere und 46 % eine niedrigere Cholinesterase-Restaktivität auf. Auch sie vermuteten eine genetische Ursache für dieses Ergebnis.

Während jedoch die bimodale Verteilung nach Krisch auf einen dominant-rezessiven Erbgang schließen läßt, deutet die trimodale Verteilung nach Geldmacher-v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf auf ein intermediäres Prinzip der Genetik der E 600-spaltenden Aktivität des menschlichen Serums hin.

Eine dominant-rezessive Vererbung würde bedeuten, daß es hypothetisch ein dominantes Gen für hohe Paraoxonase-Aktivität, das wir mit "H" bezeichnen wollen, und ein rezessives Gen für niedrige Paraoxonase-Aktivität "n" gäbe.

• Es würden dann zwei Gruppen vorliegen:

1. hohe Paraoxonase-Aktivität: a) H n
b) H H
2. niedrige Paraoxonase-Aktivität: n n

Der wahrscheinlicheren intermediären Vererbung der Paraoxonase-Aktivität würden zwei gleichwertige Gene zugrunde liegen:

1. Ein Gen für hohe Paraoxonase-Aktivität: "2"
2. Ein Gen für niedrige Paraoxonase-Aktivität: "1"

Daraus würden dann die drei bereits erwähnten Gruppen (siehe S. 3) mit hoher, mittlerer und niedriger Paraoxonase-Aktivität folgen.

Um diese Fragen zu klären, habe ich Untersuchungen an Seren von 10 Familien mit der Warburg-Apparatur unternommen, wobei ich E 600 als Alkylphosphat und Butyrylcholinjodid als Substrat verwendet habe.

C. Eigene Untersuchungen

1. Messung der Serum-Cholinesterase-Aktivität mit Butyrylcholinjodid als Substrat in der Warburg-Apparatur Typ V 85 der Firma Braun, Melsungen, mit der manometrischen Methode von Ammon (1934) in der Modifikation von Friedberg und Sakai (1958), jedoch bei einem pH-Wert von 7,2.

a) Versuchsvorbereitung

Den Mitgliedern von 10 miteinander nicht verwandten gesunden Familien (Vater, Mutter, Kinder) wurden mit einer Venüle 10 ml Venenblut abgenommen, das etwa 1 Stunde nach Entnahme 15 Minuten lang bei 1500 U/min zentrifugiert wurde. Dabei zeigte sich bei keinem Serum eine Hämolyse, welche jedoch im Versuch bei Verwendung von Butyrylcholinjodid als Substrat auf Grund der substrat-spezifischen Wirkung der Erythrozyten-Cholinesterase auf Acetylcholinchlorid keinerlei Auswirkung gehabt hätte (Lindorf, 1971).

Das gewonnene Serum wurde sofort abgetrennt und bei plus 4°C im Kühlschrank aufbewahrt, bedingt durch apparative und organisatorische Gegebenheiten, jedoch nicht länger als 48 Stunden, was aber auf die Aktivität der zu untersuchenden Stoffe nach Lindorf (1971) keinen Einfluß hat.

Bei der Inkubation mit E 600 wurden die Bedingungen auf die nachfolgende Messung der Aktivität abgestimmt.

b) Inkubation mit E 600

Zur Herstellung der Vergiftungslösung wurden 1 µl E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl-phosphat) auf 90 ml aq. dest. gegeben; man ließ diese

Lösung 5 - 10 Minuten stehen und gab dann davon 10 μ l in 13,5 ml Verdünnungslösung. Dies als Verdünnungsflüssigkeit für das Serum verwendete Salzlösung wurde wie folgt hergestellt:

I) Man löst 2,7 g NaCl in 300 ml aq. dest.

II) 1,26 g NaHCO_3 gibt man auf 100 ml. aq. dest.

Lösung I) und 90 ml von Lösung II) zusammen ergeben die Verdünnungslösung.

Zur Vergiftung wurden 0,15 ml Serum mit 1,35 ml der E 600-haltigen Verdünnungslösung versetzt.

Die E 600-Konzentration im Inkubationsansatz war 3,2 mal 10^{-8} molar.

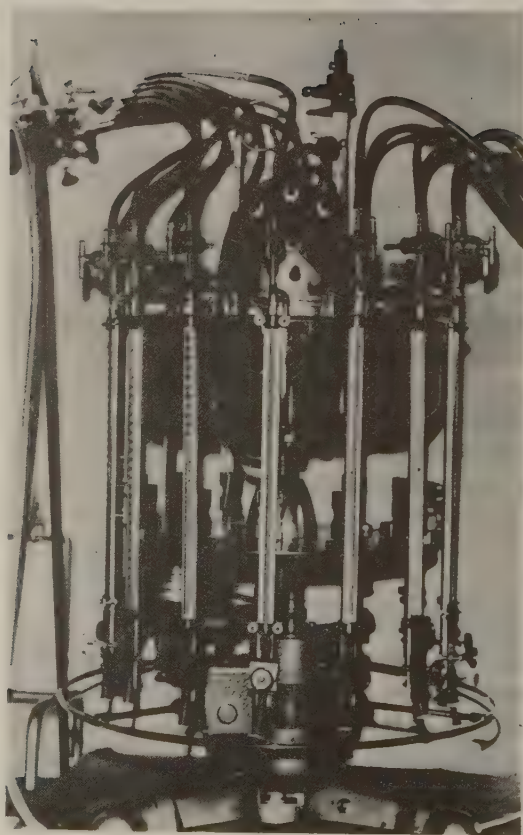
In den Reaktionsraum der Warburggefäße wurden 1,5 ml der Butyrylcholinjodidlösung gebracht, in die Anhangsbirne 0,5 ml des inkubierten Serums. Die Warburggefäße wurden dann an die Manometer angeschlossen, wobei die besondere Aufmerksamkeit auf das Abdichten der Manometerhähne gerichtet war. Daraufhin wurden sie in ein Wasserbad von 37°C gehängt. Ab Markierung 25 des Kurzzeitmessers wurden die Reaktionssubstanzen 20 Minuten lang mit einem $\text{CO}_2\text{-N}_2$ -Gemisch unter Schütteln begast (Abb. 1).

Fünf Minuten vor Ablauf der Inkubationszeit wurde die Schüttelautomatik abgestellt und jetzt auftretende Manometerdifferenzen notiert.

Der pH-Wert lag während der genau einstündigen Inkubationszeit bei etwa 7,7 (Süllmann, 1964), die Temperatur der Inkubation bei 37°C .

c) Messung der Cholinesteraseaktivität

Nach der Inkubationszeit wurde der Inhalt der Anhangsbirne in den Reaktionsraum der Warburggefäße gekippt. Der pH-Wert lag nun bei 7,2 (Süllmann, 1964).



Warburg-Apparatur

Die Gefäße wurden 3 Minuten unverschlossen geschüttelt, wobei die Schüttelfrequenz 100/min. betrug. Danach verschloß man die Warburggefäße und die Manometer und notierte den nach 15 Min. und 30 Min. abgelesenen Manometerstand. Während dieser 30 Minuten blieb die Schüttelautomatik mit Ausnahme des kurzen Ablesevorgangs eingeschaltet.

Die Aktivität der Seren wurde in Doppelbestimmungen ermittelt, d.h. es wurden in einem Versuchsablauf je zwei Ansätze mit und ohne E 600 bestimmt. Zur Kontrolle der Eigenhydrolyse dienten zwei Leerwerte, bei welchen die Anhangsbirne des Gefäßes 0,5 ml Verdünnungslösung, der Reaktionsraum 1,5 ml Butyrylcholinjodid-Lösung enthielt.

In einem einzigen Versuchsablauf konnten somit außer den beiden Leerwerten drei verschiedene Seren (davon jeweils zwei Ansätze mit und zwei Ansätze ohne E 600) geprüft werden.

Darüber hinaus wurde jedes Serum in der eben beschriebenen Weise in zwei verschiedenen Versuchsabläufen untersucht, so daß von jedem Serum insgesamt demnach vier Werte nach Vergiftung und vier Werte ohne Vergiftung vorlagen.

d) Berechnung der Restaktivität

Von den abgelesenen Manometerwerten wurden die vorher notierten Manometerdifferenzen abgezogen, die sich so ergebende Zahl mit den jeweiligen Manometerkonstanten multipliziert. Die Leerwerte errechneten sich ebenso.

Die zu jedem Manometer gehörende Konstante ergibt

sich aus folgender Formel (nach Süllmann)

$$K = \frac{V_G \times \frac{273}{T} + V_F \times \alpha}{P_0}$$

wobei V_G = Volumen des Gasraumes
 T = Versuchstemperatur
 V_F = Flüssigkeitsvolumen
 α = Absorptionskoeffizient
 P_0 = Normaldruck

Aus den Wertepaaren nach Vergiftung und ohne Vergiftung wurde jeweils das arithmetische Mittel gebildet und der Leerwert von diesen beiden Mittelwerten der Fermentmessung subtrahiert.

Das Verhältnis des Wertes nach Vergiftung zu demjenigen ohne Vergiftung stellte die Restaktivität in Prozent der Normalaktivität dar.

2. Versuchsergebnisse

Es wurden 33 Seren von 10 gesunden, miteinander nicht verwandten Familien (jeweils mit Vater, Mutter und Kind(ern)) untersucht, wobei die Gruppenzugehörigkeit in Bezug auf niedrige, mittlere oder hohe Cholinesterase-Restaktivität vor den Untersuchungen nicht bekannt war.

Die nebenbei laufenden Blutgruppenuntersuchungen nach dem ABO-System erbrachten bei den Kindern keine unmögliche Blutgruppenkonstellation, die im Hinblick auf die genetische Verwertbarkeit der Seren hätte Bedenken aufkommen lassen können.

Tabelle Nr. 3 zeigt die Verteilung der Seren, aufgeschlüsselt nach der Cholinesterase-Restaktivität.

Tabelle 3

Serumcholinesteraserestaktivität in % der Ausgangsaktivität

Familie	1. Bestimmung		2. Bestimmung		Mittelwert % Restaktivität
	Datum 72	Wert	Datum 72	Wert	
1.					
Vater: G.	13. März	1,50 %	13. März	1,32 %	1,41 % (nieder)
Mutter: G.	13. März	3,45 %	15. März	4,18 %	3,82 % (nieder)
Kind: G.	13. März	3,59 %	14. März	4,22 %	3,96 % (nieder)
2.					
Vater: M.	15. März	17,73 %	16. März	13,70 %	15,72 % (mittel)
Mutter: M.	28. März	1,70 %	28. März	0,76 %	1,23 % (nieder)
Kind: M.	28. März	20,70 %	28. März	20,57 %	20,63 % (mittel)
3.					
Vater: B.	20. März	2,20 %	20. März	2,70 %	2,45 % (nieder)
Mutter: B.	18. März	1,60 %	20. März	0,74 %	1,12 % (nieder)
Kind 1: B.	20. März	1,45 %	20. März	1,04 %	1,25 % (nieder)
Kind 2: B.	18. März	1,78 %	20. März	1,43 %	1,61 % (nieder)
4.					
Vater: K.	29. März	1,02 %	29. März	1,07 %	1,05 % (nieder)
Mutter: K.	29. März	40,80 %	29. März	41,00 %	40,90 % (hoch)
Kind: K.	29. März	13,50 %	30. März	16,50 %	15,00 % (mittel)
5.					
Vater: G.	23. März	2,10 %	23. März	1,87 %	1,99 % (nieder)
Mutter: G.	27. April	3,36 %	27. April	2,13 %	2,75 % (nieder)
Kind: G.	9. März	4,14 %	10. März	3,70 %	3,92 % (nieder)

Fortsetzung:

Familie	1. Bestimmung		2. Bestimmung		Mittelwert % Restakti
	Datum 72	Wert	Datum 72	Wert	
6.					17,65 %
Vater: N.	5. April	19,30 %	6. April	16,00 %	(mittel)
Mutter: N.	5. April	2,85 %	5. April	3,63 %	3,24 % (nieder)
Kind: N.	26. April	4,33 %	26. April	4,52 %	4,43 % (nieder)
7.					21,35 %
Vater: J.	6. April	21,60 %	6. April	21,11 %	(mittel)
Mutter: J.	6. April	16,10 %	6. April	17,83 %	16,97 % (mittel)
Kind: J.	6. April	18,36 %	7. April	15,73 %	17,05 % (mittel)
8.					3,96 %
Vater: H.	24. April	4,19 %	24. April	3,73 %	(nieder)
Mutter: H.	24. April	4,05 %	24. April	3,78 %	3,91 % (nieder)
Kind: H.	24. April	4,69 %	24. April	4,45 %	4,57 % (nieder)
9.					2,50 %
Vater: S.	27. April	2,84 %	27. April	2,16 %	(nieder)
Mutter: S.	5. Mai	18,65 %	5. Mai	17,56 %	18,10 % (mittel)
Kind 1: S.	27. April	2,45 %	27. April	3,49 %	2,97 % (nieder)
Kind 2: S.	7. April	2,12 %	7. April	2,97 %	2,55 % (nieder)
Kind 3: S.	23. März	1,69 %	23. März	0,81 %	1,25 % (nieder)
10.					2,69 %
Vater: N.	4. Mai	2,41 %	5. Mai	2,97 %	(nieder)
Mutter: N.	4. Mai	2,55 %	5. Mai	2,88 %	2,72 % (nieder)
Kind: N.	25. April	1,98 %	25. April	2,36 %	2,17 % (nieder)

Zunächst bestätigte sich die von Geldmacher-v. Mallinckrodt und Lindorf (1969) beschriebene Einteilung der Restaktivitäten in drei Gruppen: Die erste Gruppe mit niedriger Restaktivität reicht von 0,74 % bis 4,69 % Restaktivität, die mittlere Gruppe von 13,5 % bis 21,60 % und die hohe Gruppe von 40,80 % bis 41,0 %. Die schmale Schwankungsbreite der letzten Gruppe resultiert aus der kleinen Zahl hoher Typen.

Die Gruppenteilung läßt sich hieraus deutlich erkennen.

Berechnet man den prozentualen Anteil der einzelnen Gruppen, wobei nur die Serumwerte von Vater und Mutter, nicht die der Kinder, herangezogen wurden, so ergibt sich folgendes Bild:

Niedrige Gruppe: 70 %

Mittlere Gruppe: 25 %

Hohe Gruppe: 5 %

wobei gerade bei den zwei letzten Prozentzahlen durch die kleine Anzahl der Seren die Schwankungsbreite noch relativ hoch anzusetzen ist.

Betrachtet man nun die Versuchsergebnisse im Hinblick auf die Genetik, das heißt auf die Fragen hin, zu welcher Typengruppe bei gegebener Restaktivität der Eltern deren Kinder gehören, findet sich folgendes Resultat, wie es aus den Tabellen Nr. 3 und 4 hervorgeht.

Die Versuchsergebnisse der kindlichen Seren zeigen bei den hier geprüften Familien einen intermediären Erbgang auf.

Tabelle 4

Verteilung der Paraoxonasen-Typen bei 10 Familien mit
33 Personen

Name	Vater	Mutter	K i n d e r		
			1	2	3
1. Geisler	1 - 1	1 - 1	1 - 1		
2. Meyer	2 - 1	1 - 1	2 - 1		
3. Beck	1 - 1	1 - 1	1 - 1	1 - 1	
4. Kirchdorfer	1 - 1	2 - 2	2 - 1		
5. Glöckner	1 - 1	1 - 1	1 - 1		
6. Neubauer	2 - 1	1 - 1	1 - 1		
7. Jany	2 - 1	2 - 1	2 - 1		
8. Höfler	1 - 1	1 - 1	1 - 1		
9. Simon	1 - 1	2 - 1	1 - 1	1 - 1	1 - 1
10. Nehls	1 - 1	1 - 1	1 - 1		

Bei den Familien 1, 2, 3, 4 und 5 sind sowohl Vater als auch Mutter der Paraoxonase-Gruppe 1 - 1, das heißt der niedrigen Gruppe zugehörig: alle Kinder wiesen die gleiche Gruppenzugehörigkeit, nämlich 1 - 1, auf.

Die Familien 6, 7 und 8 sind vom Vater und der Mutter her gemischt: ein Partner besitzt die Paraoxonase-Gruppe 1 - 1, der andere gehört zur mittleren Gruppe, also 2 - 1: Die Kinder können sowohl der niedrigen als auch der mittleren Gruppierung zugehörig sein. Der intermediäre Erbgang zeigt sich besonders deutlich, wenn wir die Familien 6 und 7 miteinander vergleichen. Während das Kind der Familie 6 die Paraoxonase -Gruppe 2 - 1 besitzt, ist das Kind der Familie 7 der niedrigen Gruppierung zuzuordnen, obwohl die Familien von den Eltern her beide gemischt sind.

Bei der Familie 9 gehören Vater und Mutter der mittleren Gruppierung an. Das Kind gehört ebenfalls der mittleren Gruppe an, obwohl bei ihm auch eine hohe und eine niedrige Paraoxonase-Aktivität möglich wäre.

Als einzige Familie mit hoher Paraoxonase-Aktivität erweist sich die Familie 10, bei der der Vater einen niedrigen Typus darstellt, die Mutter mit 40,90 % eindeutig zur hohen Gruppe zu zählen ist. Das Kind zeigt mit 15,00 % eine mittlere Paraoxonase-Aktivität.

Tabelle Nr. 4 zeigt die in den Versuchen vorgefundene Paraoxonase-Aktivität von Eltern und Kindern, wobei jeweils die neuere Gruppeneinteilung 1 - 1, 2 - 1, 2 - 2, (nach Geldmacher-v. Mallinckrodt und Lindorf (1969)) der älteren, bisherigen Typenbezeichnung "niedrig", "mittel" und "hoch" entspricht.

D. Zusammenfassung

Zur Untersuchung standen insgesamt 33 menschliche Seren (16 weibliche und 17 männliche) von 10 gesunden Familien zur Verfügung.

Ausgehend von den Unterschieden, die einerseits Krisch (1968) für Paraoxonase und andererseits Geldmacher-v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) in der Restaktivität der Serum-Cholin-esterasen nach Vergiftung mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat) gefunden hatten, und die nach Geldmacher-v. Mallinckrodt und Baumgartner auf unterschiedlichen Paraoxonase-Aktivitäten beruhen, sollte die Frage nach der genetischen Steuerung geklärt werden.

Bei den Untersuchungen an Familien die Geldmacher-v. Mallinckrodt und Lindorf (1969) durchführten, mußten noch Überlegungen mit einbezogen werden, die für einen dominanten Erbgang sprachen.

Die von mir gefundenen Werte und Ergebnisse bezüglich der vererbten Paraoxonase-Aktivität untermauern die These eines intermediären Erbganges, wobei die Paarungen mit homozygoten Typen (1 - 1) mit gleichfalls niedrigem Typ des Kindes einem intermediären genetischen Gang nicht entgegenstehen, sondern eine Möglichkeit in dieser Steuerung darstellen.

Es ergaben sich bei den Versuchen auf seiten der Eltern vier der sechs möglichen Typenkombinationen, nämlich:

1 - 1; 1 - 1

1 - 1; 2 - 1

2 - 1; 2 - 1

2 - 2; 1 - 1

Dementsprechend ergaben sich bei den Kindern folgende Restaktivitäten:

Die Kinder aus der 1. Paarungsmöglichkeit gehören der niedrigen Gruppe (1 - 1) an.

Nachkommen der unter 2) angeführten Kombinationen besitzen entweder eine niedrige oder eine mittlere Restaktivität (1 - 1 oder 2 - 1). Bei einer Familie gehörte das Kind der mittleren, bei zwei Familien der niedrigen Gruppe an.

Bei einer Ausgangssituation 2 - 1; 2 - 1 ist bei meinen Untersuchungen einmal ein niedriger Typ hervorgegangen. Die Kinder könnten aber genauso mittlere oder hohe Paraoxonase-Aktivität besitzen.

Sind die Elternteile 1 - 1 und 2 - 2, so können die Erbträger nur der 2 - 1-Gruppe angehören.

Tabelle Nr. 5 veranschaulicht die einzelnen Kombinationsmöglichkeiten auf seiten der Eltern und zeigt die daraus sich ergebenden Paraoxonase-Aktivitätsgruppen der Kinder, wobei auch aus den durchgeführten Untersuchungen auf die zwei in diesem Untersuchungsmaterial nicht vorkommenden Möglichkeiten (2 - 1; 2 - 2 und 2 - 2; 2 - 2) geschlossen wurde.

Anlässlich der Blutentnahme bei den einzelnen Familien wurden zwar wie erwähnt Blutgruppenuntersuchungen nach dem ABO-System durchgeführt, sie dienten aber bei diesen Versuchen einmal als ein gewisser Anreiz zum Blutspenden, zum andern als grober Anhalt für eine berechtigte genetische Untersuchung der Kinder.

Tabelle 5

Eltern	1 - 1		
1 - 1	Kinder 1 - 1		
		2 - 1	
2 - 1	1 - 1 2 - 1	Kinder 1 - 1 2 - 1 2 - 2	
			2 - 2
2 - 2	2 - 1	2 - 1 2 - 2	Kinder 2 - 2

Aufstellung der möglichen Gruppenzugehörigkeit der Kinder bei den verschiedenen elterlichen Kombinationen.

Neben manchen anderen interessierenden und noch offenstehenden Fragen, wie zum Beispiel die Auswirkungen von Krankheiten auf das ferment-spaltende System, wäre eine Untersuchung über den Zusammenhang der bisher bekannten Blutgruppen und der unterschiedlichen Restaktivität der E 600-Phosphate sicherlich aufschlußreich.

E. Literaturverzeichnis

1. Aldrige, W.N.:

Serum esterase. 1. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. Biochem. J. 53, 110 (1953 a)

2. Aldrige, W.N.:

Serum esterases. 2. an enzyme, hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphatase (E 600) and its identity with the A-Esterase of mammalian sera. Biochem. J. 110 (1953 b)

3. Ammon, R.:

Die fermentative Spaltung des Acetylcholins. Pflügers Arch. ges. Physiol. 233, 486 (1934)

4. Augustinsson, K.B., and B. Heimbürger:

Enzymatic hydrolysis of organophosphorus compounds. I-VI. Acta. chem. scand. 8, 753, 762, 915, 1533 (1954); 9, 310, 383 (1955)

5. Geldmacher-v. Mallinckrodt, M., Baumgartner, W., Pétenyi, M., Burgis, H., Lindorf, H.H. und H. Metzner
Korrelation zwischen der unterschiedlichen Vergiftbarkeit der Serum-Cholinesterase durch E 600 und der Aktivität des E 600-spaltenden Enzym-Systems in menschlichen Seren.
Hope-Seyler's Z. Physiol. Chem. 353, 217 (1971)

6. Geldmacher-v. Mallinckrodt, M. und H.H. Lindorf:

Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit Alkylphosphaten.
Vortrag der 48. Tagung der deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Berlin, 6. - 9.10. 1969 (a)

7. Geldmacher-v. Mallinckrodt, M., U. Rabast und H.H. Lindorf:
Unterschiedliche Reaktionen menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat)
Arch. Toxikol. 25, 223 (1969)
8. Geldmacher-v. Mallinckrodt, M., Lindorf, H.H., Pétenyi, M., Flügel, M., Fischer, T. und T. Hiller:
Genetisch determinierter Polymorphismus der menschlichen Serum-Paraoxonase.
Humangen. 17, 331 - 335 (1973)
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
9. Goedde, H.W., Doenicke, A. und Altland, K.:
Pseudocholinesterasen (1967)
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1967)
10. Kimmerle, G. und D. Lorke:
Die Toxikologie der insektiziden Phosphorsäureester
Pflanzenschutznachrichten Bayer 21, 111 (1968)
11. Kuschinsky, G. und H. Lüllmann:
Phosphorsäureester als Insektizide
In: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, hrsg. von G. Kuschinsky und H. Lüllmann 236, 237 und 238
Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1971
12. Krisch, K.:
Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenylphosphat (E 600) durch menschliches Serum
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 6, 41 (1968)
13. Main, A.R.:
Kinetic evidence of multiple reversible cholinesterases based on inhibition by organophosphates
J. biol. Chem. 244, 829 (1969)
14. Skrinjaric-Spoljar, M. und E. Reiner:
Hydrolysis of diethyl-p-nitrophenyl-phosphate and ethyl-p-nitrophenyl-ethylphosphatate by human sera
Biochem. Biophys. Acta 165, 289 (1968)

15. Süllmann, E.:

Manometrische Methoden zur Untersuchung des Gewebsstoffwechsels

In: Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch-Chemischen Analyse, hrsg. von K. Lang und E.

Lehnartz, Bd. VI A, Teil A.

Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1964)

16. Whittacker, M.:

The pseudocholinesterase variants. Differentiation by means of alkyl alcohols

Acta genet. (Basel) 18, 325 (1968)

17. Whittacker, M.:

Differential inhibition of human serum cholinesterase with butyl alcohol: recognition of new phenotypes.

Acta genet. (Basel) 18, 335 (1968 a)

Zum Schluß erlaube ich mir, dem ehemaligen Direktor des Instituts, Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig, für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut und seinem Nachfolger, Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling, für die Übernahme des Korreferates zu danken.

In besonderer Dankbarkeit bin ich Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt verbunden für die Überlassung dieses Themas, für die vielen Ratschläge, die sie mir mit großer Hilfsbereitschaft erteilte und für ihre Geduld, die ich in ganz besonderer Weise während meiner Einarbeitungszeit in Anspruch nahm.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Opitz für die zur Verfügung gestellte Abbildung der Warburg-Apparatur.

Lebenslauf

Am 12. Januar 1948 wurde ich als Sohn des früheren Verwaltungsangestellten und jetzigen Rentners Eduard Müller und seiner Ehefrau Lieselotte geb. Gollwitz in Nürnberg geboren.

Von September 1954 bis Juli 1958 besuchte ich dort die Volksschule und trat anschließend am gleichen Ort in das Hans-Sachs-Gymnasium ein, welches ich im Sommer 1967 mit dem Abitur absolvierte.

Im Mai 1968 begann ich an der Universität München mit dem Studium der Medizin. Hier bestand ich im April 1969 das Vorphysikum und im April 1971 das Physikum. Anschließend wechselte ich an die Universität Erlangen - Nürnberg über, an der ich im August 1974 mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen beendete.

Copie - Center 2000
852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30